

DOI: 10.5846/stxb201511162320

吴浩浩, 徐星凯, 段存涛, 李团胜, CHENG WeiGuo. 森林土壤融化期异养呼吸和微生物碳变化特征. 生态学报, 2017, 37(8): 2729-2742.

Wu H H, Xu X K, Duan C T, Li T S, Cheng W G. Changes in heterotrophic respiration and microbial biomass carbon of forest soils during thaw. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(8): 2729-2742.

森林土壤融化期异养呼吸和微生物碳变化特征

吴浩浩^{1,2}, 徐星凯^{1,2,*}, 段存涛¹, 李团胜³, CHENG WeiGuo⁴¹ 中国科学院大气物理研究所大气边界层物理和大气化学国家重点实验室, 北京 100029² 中国科学院大学地球科学学院大气化学与环境科学系, 北京 100049³ 长安大学地球科学与资源学院, 西安 710054⁴ Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka 997-8555, Japan

摘要: 采用室内土柱培养的方法, 研究在不同湿度 (55% 和 80% WFPS, 土壤充水孔隙度) 和不同氮素供给 (NH_4Cl 和 KNO_3 , 4.5 g N/m^2) 条件下, 外源碳添加 (葡萄糖, 6.4 g C/m^2) 对温带成熟阔叶红松混交林和次生白桦林土壤融化过程微生物呼吸和微生物碳的激发效应。结果表明: 在整个融化培养期间, 次生白桦林土壤对照 CO_2 累积排放量显著高于阔叶红松混交林土壤。随着土壤湿度的增加, 次生白桦林土壤对照 CO_2 累积排放量和微生物代谢熵 (q_{CO_2}) 显著降低, 而阔叶红松混交林土壤两者显著地增加 ($P < 0.05$)。两种林分土壤由葡萄糖 (Glu) 引起的 CO_2 累积排放量 (9.61—13.49 g C/m^2) 显著大于实验施加的葡萄糖含碳量 (6.4 g C/m^2), 同时由 Glu 引起的土壤微生物碳增量为 3.65—27.18 g C/m^2 , 而施加 Glu 对土壤 DOC 含量影响较小。因此, 这种由施加 Glu 引起的额外碳释放可能来源于土壤固有有机碳分解。融化培养结束时, 阔叶红松混交林土壤未施氮处理由 Glu 引起的 CO_2 累积排放量在两种湿度条件下均显著大于次生白桦林土壤 ($P < 0.001$); 随着湿度的增加, 两种林分土壤 Glu 引起的 CO_2 累积排放量显著增大 ($P < 0.001$)。单施 KNO_3 显著地增加两种湿度的次生白桦林土壤 Glu 引起的 CO_2 累积排放量 ($P < 0.01$)。单施 KNO_3 显著地增加了两种湿度次生白桦林土壤 Glu 引起的微生物碳 ($P < 0.001$), 单施 NH_4Cl 显著地增加低湿度阔叶红松混交林土壤 Glu 引起的微生物碳 ($P < 0.001$)。结合前期报道的未冻结实验结果, 发现冻结过程显著地影响外源 Glu 对温带森林土壤微生物呼吸和微生物碳的刺激效应 ($P < 0.05$), 并且无论冻结与否, 温带森林土壤微生物呼吸和微生物碳对外源 Glu 的响应均与植被类型、土壤湿度、外源氮供给及其形态存在显著的相关性。

关键词: 微生物呼吸; 微生物碳; 葡萄糖; 外源氮; 溶解性有机碳; 激发效应; 冻土融化

Changes in heterotrophic respiration and microbial biomass carbon of forest soils during thaw

WU Haohao^{1,2}, XU Xingkai^{1,2,*}, DUAN Cuntao¹, LI Tuansheng³, CHENG Weiguang⁴¹ State Key Laboratory of Atmospheric Boundary Layer Physics and Atmospheric Chemistry, Institute of Atmospheric Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029, China² Department of Atmospheric Chemistry and Environmental Science, College of Earth Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China³ College of Earth Science and Resources, Chang'an University, Xi'an 710054, China⁴ Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka 997-8555, Japan

Abstract: Packed soil core incubation experiment was made to study the effects of external carbon (C) (glucose, 6.4 g C/m^2) addition on microbial respiration and microbial biomass C (MBC) in soils of a mature broadleaf and Korean pine mixed forest (BKPF) and an adjacent white birch forest (WBF) during thaw under different soil moisture levels (55% and 80%

基金项目: 国家自然科学基金 (41175133, 21228701, 41275166, 41321064, 41575154)

收稿日期: 2015-11-16; 网络出版日期: 2016-10-29

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xingkai_xu@mail.iap.ac.cn

water-filled pore space) and nitrogen (N) supply (NH_4Cl and KNO_3 , 4.5 g N/m^2). The results showed that, without C and N addition, cumulative CO_2 flux from the WBF soil was significantly higher than that from the BKPF soil during the incubation period. With increasing soil moisture, the cumulative CO_2 flux and microbial metabolic quotient (q_{CO_2}) decreased in the WBF soil but increased in the BKPF soil without C and N addition ($P < 0.05$). The glucose-induced cumulative CO_2 fluxes from the two forest soils ranged from 9.61 to $13.49 \text{ g CO}_2\text{-C/m}^2$, which was greater than the dose of added C in the form of glucose. The glucose-induced MBC in the two forest soils ranged from 3.65 to 27.18 g C/m^2 , while glucose addition had little impact on soil dissolved organic C pool. Hence, the extra C released upon addition of glucose may result from the decomposition of soil native organic C. Without N addition and under the two soil moisture levels, the glucose-induced cumulative CO_2 flux from the BKPF soil was significantly higher than that from the WBF soil during thaw ($P < 0.001$). With increasing soil moisture, the glucose-induced cumulative CO_2 fluxes from the two forest soils were significantly increased ($P < 0.001$). The addition of KNO_3 alone significantly increased the glucose-induced cumulative CO_2 flux ($P < 0.01$) and the glucose-induced MBC ($P < 0.001$) in the WBF soil under two soil moisture levels ($P < 0.001$). Addition of NH_4Cl alone significantly increased the glucose-induced MBC in the BKPF soil with low moisture level. Based on the results from the previously reported non-freezing experiments and the results of the present study, it can be concluded that freezing treatment significantly affects the stimulating effects of glucose on soil microbial respiration and MBC under temperate forests. Regardless of whether freezing occurred or not, the responses of soil microbial respiration and MBC to the addition of extraneous C as glucose in temperate forests depend on vegetation type, soil moisture, and the amount and type of N added.

Key Words: microbial respiration; microbial biomass carbon; glucose; nitrogen supply; dissolved organic carbon; stimulating effect; thawing of frozen soil

冻结过程中土壤微生物和细根的死亡以及团聚体的破碎,有利于土壤速效碳的堆积,从而可能刺激冻结后土壤融化过程中二氧化碳(CO_2)的释放^[1-6]。但也有室内培养实验^[7-9]和野外观测^[10-11]发现冻结土壤融化过程中未出现二氧化碳激发排放。冻结土壤融化过程中是否存在 CO_2 激发排放,可能与冻结条件、土壤湿度、有效性碳和氮含量及相关微生物特性有关^[5,12-15]。目前仍不明确冻结后土壤有效性碳和氮释放量增加是否影响融化过程土壤微生物呼吸和微生物量的激发效应。尽管不少研究曾报道了外源碳添加对未冻结土壤有机碳转化和有效碳含量的影响^[16-20],但是其激发效应与冻结处理土壤的差异仍缺乏深入的研究。这些将不利于人们深入地认识高纬度和/或高海拔地区冻土融化过程中有机碳分解和微生物量变化规律以及影响机制^[3,21]。

陆地生态系统每年秋季凋落物中存有大量的碳,其大部分会保存到来年春季融化期被复苏的土壤微生物利用^[22-23]。研究表明外源碳的添加会促进土壤固有有机碳的分解,进而刺激土壤融化期 CO_2 的激发排放^[24-25]。另外,随着大气氮沉降的日益加剧,春季积雪融化为土壤输入大量氮。但这种氮输入如何影响冻土融化 CO_2 排放以及与冻结后凋落物在融雪时碳素输入存在何种交互作用至今仍不清楚。

当前全球降水格局的变化、植被郁闭度的不同及春季积雪融化等因素导致春季融化过程中土壤湿度存在巨大的时空差异^[26],而 Stielstra 等^[15]认为土壤湿度是控制冬季森林土壤 CO_2 排放的最重要因子。有研究表明^[5,21,27]冻土融化过程 CO_2 排放量随着土壤湿度的增加而增加,而 Teepe 等^[29]的培养实验却显示:随着土壤湿度的增加(42%—76%WFPS,土壤充水孔隙度),冻土融化过程中 CO_2 排放量减少。因此,土壤湿度对冻结土壤融化过程中 CO_2 排放的影响仍存在不确定性,而且积雪融化引起的氮输入和土壤湿度的变化如何交互影响外源碳对冻土融化过程 CO_2 排放的刺激效应鲜有报道。

中国东北长白山地区每年 11 月末到次年 3 月初期间,日平均气温和土壤表面日均温度通常为 -5 — -30°C ,每年土壤冻结深度高达 1.0m ^[5],这可能深刻影响到该地区每年春末融化期陆地土壤碳素循环关键过程。不幸的是,以往实验室研究多数关注适度冻结处理(-3 — -13°C)和频繁冻融干扰下土壤微生物呼吸和/或微生物量的变化^[1,2,28],对于长期严重冻结后土壤融化过程的实验报道甚少。阔叶红松混交林为长白山地区地带性森林演替顶级群落,由于植被覆盖度和趋光性差异,该林分地表微环境水热条件明显有别于临近的次

生白桦林。次生白桦林是阔叶红松混交林被破坏后的次生裸地上首先发生的先锋群落,在东北地区分布广泛。这种土地覆盖类型的转换可导致两种林分土壤有明显不同碳和氮有效性^[19,29]。尽管以前曾报道干土湿润过程两种林分土壤微生物呼吸和微生物量对外源碳和氮添加的响应^[19],然而,外源碳对这两种林分土壤深度冻结后融化过程中 CO₂排放的刺激效应及其对土壤湿度和外源氮的响应至今仍不清楚,这不利于人们对东北地区林地土壤固碳能力未来变化趋势的合理评估,尤其是非生长期森林土壤微生物呼吸和微生物量对环境变化的响应^[30]。

基于此,本文以中国东北长白山地区阔叶红松混交林及其临近的次生白桦林土壤为研究对象,通过室内模拟土柱培养的方法,来研究(1)土壤湿度、外源碳和氮添加对不同演替阶段两种林分土壤融化过程微生物呼吸、溶解性有机碳及微生物碳含量影响的单一和交互作用;(2)结合土壤活性碳、氮含量等属性的变化,分析外源碳添加对森林土壤融化过程微生物呼吸刺激效应的主要影响机制;(3)结合以前报道的未冻结实验结果,综合评价外源碳对森林土壤微生物呼吸和微生物量的刺激效应,为正确认识森林土壤有机碳矿化以及碳氮耦合效应提供支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区域的概况

研究区域位于中国科学院长白山森林生态系统定位站附近(42°24'N, 128°28'E),地势平坦,平均海拔高度为 738 m,年均气温约为 4.1℃,年均降水量约为 750 mm,属典型的温带大陆性气候;地下水位约为 9 m。土壤为火山灰发育的温带森林暗棕壤,剖面土壤属性见文献^[31]。选择该区域成熟阔叶红松混交林及临近的次生白桦林为目标林地,阔叶红松混交林平均树龄近 200a,林分为复层结构,平均株高 25 m,郁闭度 0.8;白桦林为天然次生林,树龄 70a 左右,平均树高 13 m,郁闭度 0.6,林分结构简单^[32]。两种林分土壤容重及研究区域土壤冻结深度、日平均气温和降雪量等气象资料参见文献^[5]。

1.2 土壤采集与属性测定

土壤样品于 2012 年 10 月采集,去除地面有机覆盖物后,用土钻取两种林分 0—10 cm 的表层土带回,过 2mm 土筛混匀备用。取一部分土壤测定其基本理化性质;剩余土壤用于实验室模拟实验。采用烘干法测定土壤含水量,利用便携式 pH 仪(Sartorius, PB10, 德国)测定新鲜土壤水浸提液 pH(土:液=1:2.5, w/w)。利用氯仿熏蒸浸提法测定土壤微生物 C 和 N 含量;利用纯水和 0.5 mol/L K₂SO₄溶液浸提土壤(土:液=1:5, w/w),SKALAR 流动分析仪(SAN⁺⁺, 荷兰)测定土壤浸提液中铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、溶解性总氮(TN)和溶解性有机碳(DOC)的含量。根据 TN 与(NH₄⁺-N+NO₃⁻-N)差值,计算土壤溶解性有机氮(DON)含量。根据灭菌前后土壤 K₂SO₄浸提的 DOC 和 TN 含量各自差值除以 0.45 分别算出土壤微生物 C 和 N 含量^[33-35]。供试土壤基本性质见文献^[19]。

1.3 土壤湿度调节与养分添加实验设计

基于上述两种林分土壤容重建各自模拟土柱,研究两种湿度水平(55%和 80% WFPS)、3 种营养源添加及其组合对土壤融化过程 CO₂排放量的影响,这里添加的营养源包括:葡萄糖(Glu, 6.4 g C/m²)、氯化铵(NH₄Cl, 4.5 g N/m²)、葡萄糖和氯化铵(Glu+NH₄Cl)、硝酸钾(KNO₃, 4.5 g N/m²)、葡萄糖和硝酸钾(Glu+KNO₃);无营养源添加为对照(Control)。共 6 种处理,3 次重复,总共 72 个模拟土柱。氮素和碳素添加量分别相当于两种林分森林穿透雨 N 年输入量的 4 倍和 DOC 年输入量的 80%。

称取 85 g 新鲜土壤样品,装入容积为 100 mL、内径为 50.5 mm 的环刀中。根据实验所设的营养源添加量和水分条件为各处理配置所需溶液。将溶液均匀地添加到各样品土壤表面后,迅速放入温度设置为-18℃的冷柜中,以减少加湿对土壤 CO₂排放的激发效应,同时溶液在冻结前从土壤表面缓慢下渗到底部,足以保证营养源和水分在土壤中的均匀分布。样品冻结 50 天后取出,迅速装入气密性良好的 PVC 杯(760 mL, 高 17 cm, 直径 7.5 cm)中,密封后转入培养箱(上海一恒, LRH250)中进行培养,同时采用无土的 PVC 杯密封培养为空

白,实验持续 15d。根据研究区域近 30 年期间每年 12 月至次年 2 月土壤表面日均温度^[5],进行-18℃冷冻 50 天模拟实验;参考研究区域多年春末林地土壤完全融化时平均日气温,设置融化培养温度为 10℃。在整个培养过程中通过称重方法适时补水以保证土壤湿度稳定。杯盖上有导管连出并配有三通阀,用同样配有三通阀的 50 mL 针管抽取气体样品。考虑土壤融化前期 CO₂排放量的激发效应,分别于融化培养后 6,12,24,37,49,75,95,119,143,167,191,215,239,263,287,311,335 h 和 359 h,从培养容器中抽取 30 mL 样品,每次采样结束时换气 30 min,再封闭继续培养直至下次采样。气样中的 CO₂含量通过镍触媒转化为甲烷后用配有 FID 检测器的气相色谱仪(Agilent 7890A,美国)测定^[5]。标准气体 CO₂为国家标准物质中心提供,浓度为 2.02 mL/L,平衡气为空气。实验结束后,根据前述方法,测定土壤水浸提和 K₂SO₄浸提的 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、TN 和 DOC 含量,以及微生物 C 和 N 含量;同时测定土壤含水量和土壤容重并计算 WFPS^[36]。

1.4 计算与统计分析

培养过程中根据每个处理与无土壤的空白容器中气体 CO₂浓度差异以及采样前密封时间算出每次采样时不同处理土壤 CO₂瞬间排放速率(mg CO₂-C m⁻²h⁻¹)。不同处理 CO₂累积通量是将培养期间每次采样测得的 CO₂排放量累加(g CO₂-C/m²)。利用 Box Lucas 指数模型拟合实验各处理 CO₂累积排放量与培养时间之间的关系,如式(1):

$$Y = S_0(1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

式中, Y 为 CO₂累积排放量(g CO₂-C m⁻²); t 为培养时间(h); S_0 为模型理论上限; $S_0 \times k$ 为模型起始时的增长速率(回归确定系数, $R^2 > 0.95$, $P < 0.001$), 定义为培养初期 CO₂排放速率,用以表征融化初期土壤 CO₂激发排放的强度(mg CO₂-C m⁻²h⁻¹)。基于本次培养实验较高频次采样,不同处理土壤 CO₂最大排放速率为培养过程中测得瞬间排放速率的最大值(mg CO₂-C m⁻²h⁻¹)。各处理培养期间 CO₂累积排放量和土壤微生物碳的比值为微生物代谢熵(q_{CO_2})(mg CO₂-C g⁻¹生物量 C d⁻¹)。

利用单施 Glu 处理与对照、Glu+NH₄Cl 处理与 NH₄Cl 处理及 Glu+KNO₃处理与 KNO₃处理土壤活性碳库、CO₂瞬间排放速率和 CO₂累积排放量的差值,来研究外源氮对 Glu 引起的融化培养期间森林土壤有机碳激发效应的影响,分别用 Glu-对照, (Glu+NH₄Cl)-NH₄Cl 和 (Glu+KNO₃)-KNO₃表示,并分析不同湿度和不同林分之间的差异。用培养期间 CO₂瞬间排放速率差值的最大值来表示由 Glu 引起的融化培养期间 CO₂最大排放速率。用式(1)来拟合 CO₂累积排放量的差值随培养时间的变化,取 $S_0 \times k$ 值表示由 Glu 引起的培养期间 CO₂排放速率。利用高湿度未施氮、低湿度施氮或高湿度施氮处理分别与低湿度未施氮处理 Glu 引起的 CO₂累积排放量或微生物碳含量的比值再减去 1 乘以 100%,分析湿度增加、施氮及其组合对 Glu 引起的融化培养期间森林土壤有机碳激发效应的影响。所有处理 3 次重复,均计算平均值和标准误差。所有数据利用 Tukey 比例估计公式进行正态转化并确认方差齐性后再进行统计分析。利用多因素方差分析研究:(1)湿度、碳和氮添加及其组合对两种林分土壤融化培养初期 CO₂排放速率、培养期最大排放速率和累积排放量以及 q_{CO_2} 的影响;(2)林分、土壤湿度和施氮及其组合对由 Glu 引起的融化培养期间土壤有机碳分解激发效应的影响;(3)结合以前报道的未冻结实验结果,综合分析冻结、土壤湿度和施氮及其组合对由 Glu 引起的土壤有机碳分解激发效应的影响。利用图基(Tukey)检验的 Honestly 显著性差异(HSD_{0.05})表示培养期间每次采样不同处理 CO₂排放速率和累积排放量以及由 Glu 引起的土壤 CO₂排放速率和累积排放量的差异性;利用 t 检验比较不同处理两组数据之间的差异,显著性检验的置信水平设定为 95%。通过多元线性逐步回归分析,阐述两种林分土壤 CO₂排放的主要影响因子。所有的统计分析均利用 SPSS 19.0 软件实现。

2 结果与讨论

2.1 湿度与外源氮对未施 Glu 土壤融化过程 CO₂排放动态变化的影响

图 1 显示单施 NH₄Cl 和 KNO₃时不同湿度两种林分土壤融化过程中 CO₂排放速率和累积排放量动态变化。由图可见,两种土壤对照 CO₂排放速率在开始融化后 2 天内达到峰值,随后逐渐降到近似稳态。与未冻

结实验相比^[19],冻结过程增加两种林分土壤培养前期 CO_2 激发排放的持续时间和峰值,并且培养结束时对照 CO_2 累积排放量增加至 1.5—1.8 倍(表 1),这种刺激倍数与我们之前所做的原状土培养实验^[5]以及 Goldberg 等^[2]的观测结果一致。与阔叶红松混交林土壤相比,低湿度条件下的整个培养期以及高湿度条件下融化 6 天后,次生白桦林土壤对照 CO_2 排放速率及累积排放量均显著较大($P<0.05$)。相对于低湿度而言,高湿度两种林分土壤对照 CO_2 排放速率达到峰值时间较晚,峰值显著较低(表 1, $P<0.05$)。培养结束时,随着土壤湿度的增加,次生白桦林土壤对照 CO_2 累积排放量和 q_{CO_2} 显著地降低,而阔叶红松混交林两者显著地增加($P<0.05$)(表 1),这种土壤 CO_2 累积排放量随着湿度的变化规律与未冻结实验结果一致^[19]。Panikov 和 Dedys^[37]报道湿地土壤(90%—92%体积含水量) CO_2 排在融化后的 2 天内持续增大,第 3 天达到最大值,直到第 5 天降低到近似稳态。然而,湿度为 50%最大持水量的针叶林土壤仅在融化后一天内出现 CO_2 脉冲式排放^[4]。综上所述,土壤湿度显著地影响冻土融化过程 CO_2 激发排放的强度和持续时间^[15],并可能随着土壤类型及其基质条件的不同存在差异。

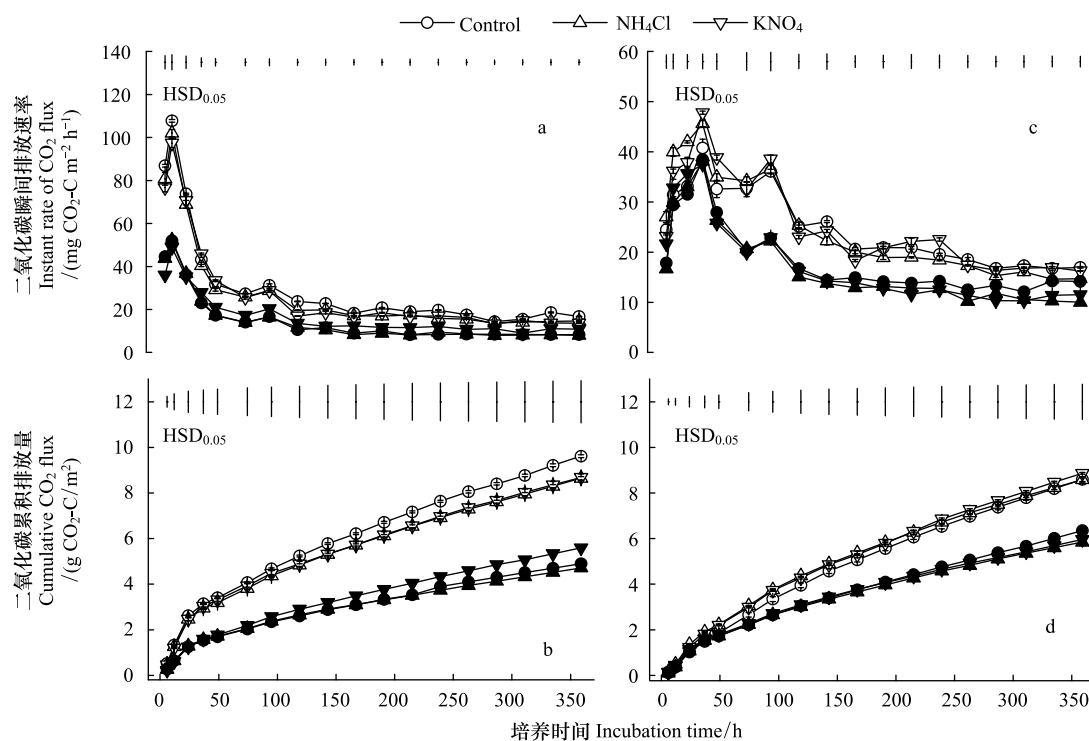


图 1 单施 NH_4Cl 和 KNO_3 时不同湿度两种林分土壤融化过程中 CO_2 排放速率和累积排放量动态变化

Fig.1 Dynamic of cumulative CO_2 fluxes and instant rates of CO_2 fluxes during thawing of frozen WBF and BKPF soils treated with NH_4Cl and KNO_3 alone under different moisture conditions

空心图标表示次生白桦林土壤;实心图标表示阔叶红松混交林土壤;(a)和(b)表示低湿度;(c)和(d)表示高湿度;HSD_{0.05}竖线表示每次采样各个处理的 Honestly 显著性差异($P=0.05$)

低湿度条件下,单施 NH_4Cl 显著地抑制次生白桦林土壤 CO_2 培养前期排放速率和累积排放量($P<0.05$, t 检验结果)(表 1);高湿度条件下,单施 KNO_3 显著抑制阔叶红松混交林 CO_2 累积排放量($P<0.05$, t 检验结果)(表 1)。但上述两种处理外源氮对土壤 CO_2 累积排放量的抑制率(7.5%—10.2%)均显著小于未冻结实验^[19]相应处理(17.7%—20.5%)($P<0.001$, t 检验结果),这可能与冻土融化过程中释放大量的矿质氮有关^[38]。低湿度条件下,与对照相比,阔叶红松混交林土壤单施 KNO_3 处理 CO_2 累积排放量较大($P<0.05$)(表 1),这可能与较高的水溶性 DOC 含量($P<0.05$)(表 2)和较大的 q_{CO_2} 有关($P<0.05$)(表 1)。

表 1 次生白桦林和阔叶红松混交林土壤 CO₂ 排放及方差分析结果⁽¹⁾
Table 1 CO₂ fluxes from WBF and BKPF soils and results of repeated measures ANOVA

湿度 Moisture	外源碳和氮添加 C and N addition	次生白桦林土壤 WBF soil				阔叶红松混交林土壤 BKPF soil			
		培养初期排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux/ (mg C m ⁻² h ⁻¹)	最大排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux/ (mg C m ⁻² h ⁻¹)	累积排放量 Cumulative CO ₂ flux/ (g C/m ²)	q _{CO₂} / (mg CO ₂ -C g ⁻¹ 生物量 C d ⁻¹)	培养初期排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux/ (mg C m ⁻² h ⁻¹)	最大排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux/ (mg C m ⁻² h ⁻¹)	累积排放量 Cumulative CO ₂ flux/ (g C/m ²)	q _{CO₂} / (mg CO ₂ -Cg ⁻¹ 生物量 C d ⁻¹)
低 Low	Control	59.63±0.51	107.76±0.60	9.09±0.06	10.46±0.04	28.76±0.02	51.96±0.25	4.67±0.08	6.47±0.13
	Glu	182.08±1.68	182.58±2.13	18.71±0.06	18.79±1.09	132.28±2.04	149.30±3.08	16.66±0.12	20.36±0.39
	NH ₄ Cl	54.30±0.64	102.06±1.72	8.16±0.04	10.85±0.35	29.69±0.24	52.29±0.45	4.47±0.02	8.36±0.91
	Glu+NH ₄ Cl	187.24±0.88	176.26±1.66	18.75±0.06	20.00±0.72	128.86±1.75	144.23±3.93	15.85±0.16	19.88±0.19
	KNO ₃	54.86±1.22	97.36±2.10	8.71±0.11	9.59±0.57	28.88±0.43	48.77±1.35	5.30±0.06	13.53±1.36
高 High	Glu+KNO ₃	169.99±2.43	156.95±2.53	18.72±0.21	14.67±0.27	141.79±0.66	182.61±1.57	17.54±0.04	35.99±1.25
	Control	35.57±1.16	41.11±1.56	8.28±0.11	8.20±0.27	27.46±0.12	38.44±0.65	6.04±0.02	13.67±0.81
	Glu	107.31±2.73	121.96±1.22	19.92±0.17	18.49±0.91	128.82±1.25	151.45±2.38	19.23±0.09	37.63±1.24
	NH ₄ Cl	40.42±0.47	45.61±0.59	8.17±0.08	9.12±0.14	28.46±0.51	38.12±0.75	5.52±0.05	12.20±0.31
	Glu+NH ₄ Cl	119.11±1.30	128.40±3.49	19.71±0.22	19.62±0.90	139.69±3.38	143.71±3.06	17.82±0.21	35.47±1.51
湿度、外源碳与铵态氮添加三因素方差分析 Three-way repeated measures ANOVA with moisture, Glu and NH ₄ Cl addition	KNO ₃	38.45±0.46	47.80±0.31	8.45±0.04	12.16±0.64	29.87±0.49	38.29±0.88	5.65±0.01	12.65±0.16
	Glu+KNO ₃	109.63±2.64	145.76±2.57	21.94±0.27	23.26±1.08	145.00±1.32	155.23±1.04	18.83±0.16	34.53±0.34
	湿度 Moisture	*	*	*	n.s.	n.s.	*	*	*
	外源碳 Glu	*	*	*	*	*	*	*	*
	铵态氮 NH ₄ Cl	*	*	*	*	*	*	*	*
湿度×外源碳 Moisture by Glu	湿度×外源碳 Moisture by Glu	*	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	湿度×铵态氮 Moisture by NH ₄ Cl	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	*	*	*
	外源碳×铵态氮 Glu by NH ₄ Cl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	湿度×外源碳×铵态氮 Moisture by Glu by NH ₄ Cl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	湿度×外源碳×铵态氮 Moisture by Glu by NH ₄ Cl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	*
湿度、外源碳与硝态氮添加三因素方差分析 Three-way repeated measures ANOVA with moisture, Glu and KNO ₃ addition	湿度 Moisture	*	*	*	*	*	*	*	*
	外源碳 Glu	*	*	*	*	*	*	*	*
	硝态氮 KNO ₃	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	*
	湿度×外源碳 Moisture by Glu	*	*	*	n.s.	n.s.	*	*	*
	湿度×硝态氮 Moisture by KNO ₃	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	*	*	n.s.
湿度×外源碳×硝态氮 Glu by KNO ₃	湿度×外源碳×硝态氮 Glu by KNO ₃	n.s.	*	*	*	*	*	*	*
	湿度×外源碳×硝态氮 Moisture by Glu by KNO ₃	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	*	n.s.
	湿度×外源碳×硝态氮 Moisture by Glu by KNO ₃	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	*	*
	湿度×外源碳×硝态氮 Moisture by Glu by KNO ₃	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	*	*
	湿度×外源碳×硝态氮 Moisture by Glu by KNO ₃	n.s.	*	*	n.s.	*	*	*	*

* P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; n.s., 不显著

2.2 湿度与外源氮对施加 Glu 土壤融化过程 CO₂排放动态变化的影响

图 2 显示 Glu 及其与外源氮组合施加时,不同湿度两种林分土壤融化过程中 CO₂排放速率和累积排放量动态变化。与图 1 相比,施加 Glu 各处理培养前期 CO₂激发排放的峰值更大且持续时间更长,尤其是高湿度条件下直至培养后第 4 天才达到峰值。融化培养结束时,次生白桦林和阔叶红松混交林土壤单施 Glu 处理 CO₂累积排放量分别增至 18.7—19.9 和 16.7—19.2 g C/m²,约为其相应对照的 2.1—2.4 倍和 3.2—3.6 倍(表 1)。湿度和 Glu 交互影响次生白桦林土壤 CO₂培养初期排放速率以及两种土壤 CO₂累积排放量($P<0.05$)(表 1);硝态氮和 Glu 交互影响两种林分土壤 CO₂累积排放量($P<0.05$)(表 1),同时两种形态氮均与湿度和 Glu 三者交互影响阔叶红松混交林土壤 CO₂累积排放量($P<0.05$)(表 1)。Jacinthe 等^[24]发现施加高剂量的小麦残渣(70.4 g C/m²)显著地促进冬末和春季冻融期耕地土壤 CO₂的排放量,约为未施残渣处理的 2.0—2.3 倍,而施加低剂量(35.2 g C/m²)无显著影响。Lukas 等^[25]发现施加玉米残渣(1.2 mg C/g 干土和 42.5 μg N/g 干土)的土壤(36%最大持水量)微生物呼吸在融化后第 7 天达到峰值,较未施残渣处理晚 4d,其峰值大小约为未施残渣处理的 6 倍,培养结束时累积排放量增至约 7 倍。因此,外源碳对冻土融化过程微生物呼吸的刺激强度和持续时间,可能依赖于土壤类型和外源碳的种类及施加剂量,并受到土壤湿度和氮素有效性的影响。

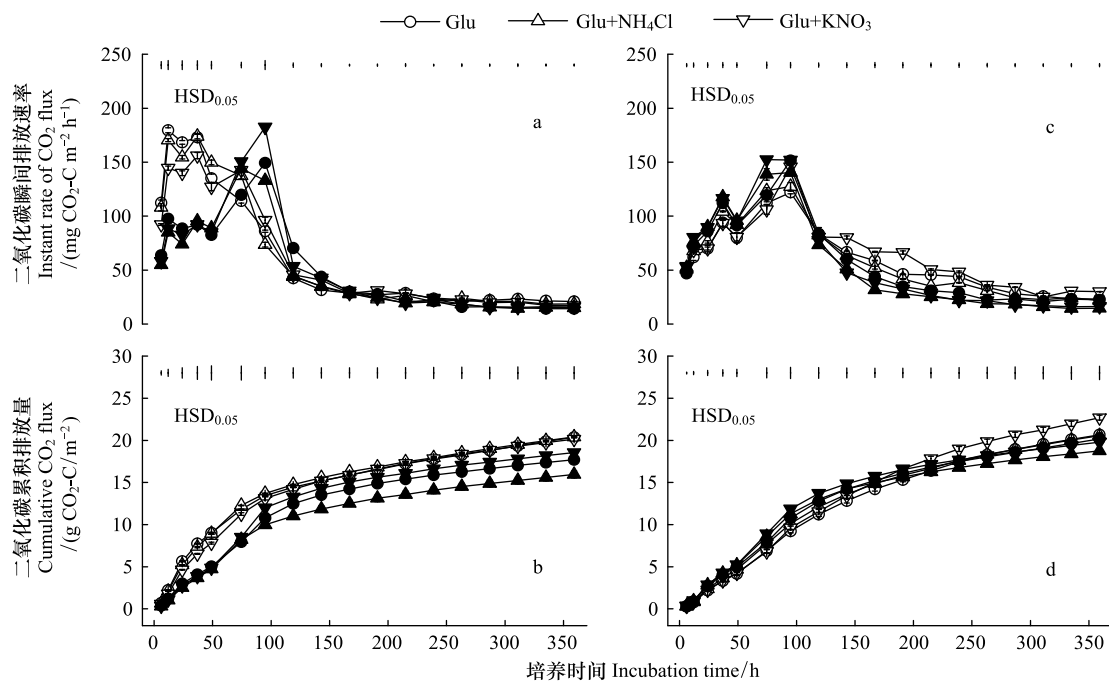


图 2 葡萄糖及其与外源氮组合施加时不同湿度两种林分土壤融化过程中 CO₂排放速率和累积排放量动态变化

Fig.2 Dynamic of cumulative CO₂ fluxes and instant rates of CO₂ fluxes during thawing of frozen WBF and BKPF soils treated with Glu and in combination with NH₄Cl or KNO₃ addition under different moisture conditions

空心图标表示次生白桦林土壤;实心图标表示阔叶红松混交林土壤;(a)和(b)表示低湿度;(c)和(d)表示高湿度;HSD_{0.05}竖线表示每次采样各个处理的 Honestly 显著性差异($P=0.05$)

2.3 林分、湿度和施氮对由 Glu 引起的融化期土壤有机碳分解和微生物量的影响

图 3 显示不同湿度和外源氮添加条件下,两种林分土壤融化过程中由 Glu 引起的 CO₂排放速率和累积排放量动态变化。低湿度条件下,阔叶红松混交林土壤由 Glu 引起的 CO₂排放速率达到峰值时间较次生白桦林土壤晚;高湿度条件下,两种林分土壤由 Glu 引起的 CO₂排放速率在融化后第 4 天均达到峰值,并且后者土壤 CO₂排放峰值显著地增加($P<0.05$)。融化培养结束时,阔叶红松混交林土壤未施氮处理由 Glu 引起的 CO₂累积排放量在两种湿度条件下均显著地大于次生白桦林土壤($P<0.001$)(表 2)。单施 KNO₃显著增加两种湿度的白桦林土壤由 Glu 引起的 CO₂累积排放量($P<0.01$)(表 2);林分、湿度和 KNO₃施加三者交互影响两种林分

土壤 Glu 引起的培养期间 CO_2 最大排放速率 ($P < 0.001$) (表 2)。培养结束时两种林分土壤由 Glu 引起的 CO_2 累积排放量 ($9.6\text{—}13.49 \text{ g C/m}^2$) 显著大于所施加的葡萄糖含碳量 (6.4 g C/m^2)，这可能来源于施加 Glu 所引起的土壤固有有机碳分解。随着土壤湿度的增加，两种林分土壤由 Glu 引起的 CO_2 累积排放量显著增大 ($P < 0.001$) (表 2)；土壤湿度及其与林分均显著地影响融化培养初期 CO_2 排放速率 ($P < 0.001$) (表 2)。结合未冻结实验结果^[19]，发现低湿度未施氮时冻结后两种林分土壤由 Glu 引起的 CO_2 累积排放量 ($9.6\text{—}12.0 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2}$) 与未冻结土壤 ($9.5\text{—}11.2 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2}$) 无差异，而高湿度时则差异达显著水平 ($P < 0.05$) (图 4)。基于湿度和冻结交互作用影响 Glu 引起的 CO_2 累积排放量 ($P < 0.05$) (表 3)，推论冻结对两种林分土壤由 Glu 引起的 CO_2 累积排放量的影响应随土壤湿度增加而增大。Mørkved 等^[40]发现施加植物提取液 (0.34 mg C/g 干土和 $28 \text{ } \mu\text{g N/g}$ 干土) 对水分张力为 10 kPa 的冻结土壤融化过程中 CO_2 排放的刺激效果与未冻土壤无显著差异。Lukas 等^[25]发现施加玉米残渣 (1.2 mg C/g 干土和 $42.5 \text{ } \mu\text{g N/g}$ 干土) 促进冻土融化过程土壤 (36% 最大持水量) 固有有机碳的分解，且这种激发效应显著强于未冻结处理。综上所述，外源碳对冻土融化微生物呼吸的激发效应与外源碳的种类及其剂量、土壤氮素有效性和湿度水平有关；冻结过程及其与土壤湿度交互影响外源碳对土壤微生物呼吸的激发效应 ($P < 0.05$) (表 3)。

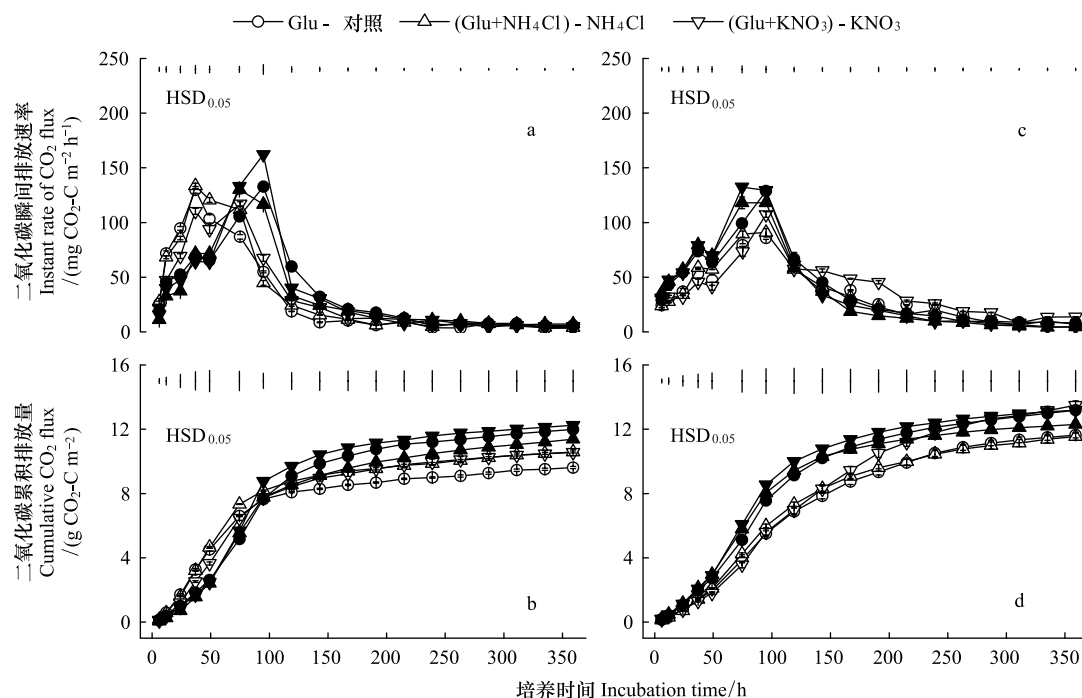


图 3 不同湿度和外源氮添加条件下，两种林分土壤融化过程中由葡萄糖引起的 CO_2 排放速率和累积排放量动态变化

Fig.3 Dynamic of glucose-induced cumulative CO_2 fluxes and instant rates of CO_2 fluxes during thawing of frozen WBF and BKPF soils treated with and without NH_4Cl or KNO_3 addition under different moisture conditions

空心图标表示次生白桦林土壤；实心图标表示阔叶红松混交林土壤；(a)和(b)表示低湿度；(c)和(d)表示高湿度；HSD_{0.05}竖线表示每次采样各个处理的 Honestly 显著性差异 ($P = 0.05$)

与阔叶红松混交林土壤相比，次生白桦林土壤不施氮处理水浸提 DOC ($P < 0.05$) 以及所有处理 K_2SO_4 浸提 DOC 和微生物碳含量均显著地增加 ($P < 0.001$) (表 2)，较大的活性碳含量可能导致了次生白桦林土壤融化过程 CO_2 排放量较大 ($P < 0.05$) (表 1)。方差分析显示土壤湿度及其与施氮交互作用显著地影响到由 Glu 引起的 K_2SO_4 浸提 DOC 增量 ($P < 0.05$)，土壤湿度显著地影响到由 Glu 引起的土壤水浸提 DOC 增量 ($P < 0.05$) (表 2)。单施 KNO_3 将两种湿度次生白桦林土壤 Glu 引起的微生物碳含量显著地增至 $16.3\text{—}27.2 \text{ g C/m}^2$ ，单施 NH_4Cl 将低湿度阔叶红松混交林土壤 Glu 引起的微生物碳含量显著地增至 14.5 g C/m^2 ($P < 0.001$) (表 2)，两者均

表 2 林分、土壤湿度和施氮对由葡萄糖引起的土壤活性碳库及 CO₂ 排放量的影响及方差分析结果

Table 2 Effects of vegetation type, soil moisture and N supply on the glucose-induced soil labile C pools and CO ₂ flux and results of repeated measures ANOVA																								
林分 Vegetation	湿度 Moisture	氮添加 N addition	水浸提 DOC			K ₂ SO ₄ 浸提 DOC			lu 引起的 K ₂ SO ₄ 浸提			微生物碳 (MBC)			lu 引起的 微生物碳 Glu induced MBC/ (g C/m ²)		培养初期 CO ₂ 排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)		CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)		CO ₂ 累积 排放量 Cumulative CO ₂ flux / (g C/m ²)			
			Water-extractable DOC		DOC	K ₂ SO ₄ -extractable DOC		DOC	lu 引起的 K ₂ SO ₄ 浸提		Microbial biomass (MBC)		lu 引起的 微生物碳 Glu induced MBC/ (g C/m ²)		培养初期 CO ₂ 排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)		CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)							
			不施加 Glu without (g C/m ²)	施加 Glu (g C/m ²)	DOC / (g C/m ²)	不施加 Glu without (g C/m ²)	施加 Glu (g C/m ²)	DOC / (g C/m ²)	不施加 Glu without (g C/m ²)	施加 Glu (g C/m ²)	DOC / (g C/m ²)	不施加 Glu without (g C/m ²)	施加 Glu (g C/m ²)	DOC / (g C/m ²)	不施加 Glu without (g C/m ²)	施加 Glu (g C/m ²)	DOC / (g C/m ²)	不施加 Glu without (g C/m ²)	施加 Glu (g C/m ²)					
次生白桦林 WBF	低 Low	不施 (without) N	3.27±0.12	3.10±0.04	-0.17±0.04	9.74±0.11	9.01±0.12	-0.73±0.12	58.0±0.6	68.0±3.6	10.07±3.57	128.1±2.0	129.8±3.2	9.61±0.06	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)	CO ₂ 累积 排放量 Cumulative CO ₂ flux / (g C/m ²)	培养初期 CO ₂ 排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)						
		NH ₄ Cl	2.83±0.11	2.62±0.05	-0.21±0.05	9.62±0.26	9.09±0.11	-0.53±0.11	50.6±1.6	63.2±2.4	12.64±2.39	133.5±0.8	133.6±2.3	10.59±0.06										
	高 High	KNO ₃	2.62±0.03	2.93±0.04	0.31±0.04	9.63±0.03	9.62±0.10	-0.01±0.10	58.0±2.7	85.2±0.7	27.18±0.71	114.0±2.4	117.5±2.0	10.55±0.21										
		不施 (without) N	4.39±0.22	4.40±0.03	0.01±0.03	10.58±0.15	11.15±0.06	0.57±0.06	67.7±1.3	72.9±2.8	5.24±2.81	71.9±2.8	86.2±1.1	11.64±0.17										
		NH ₄ Cl	3.16±0.03	3.28±0.06	0.12±0.06	10.54±0.02	10.56±0.08	0.01±0.08	59.8±1.0	67.8±2.4	8.01±2.41	78.5±1.3	92.6±3.4	11.54±0.22										
阔叶红松 混交林 BKPF	低 Low	KNO ₃	3.63±0.06	4.74±0.37	1.11±0.37	10.82±0.02	10.39±0.04	-0.43±0.04	47.4±2.6	63.7±2.3	16.30±2.28	71.0±2.6	107.2±2.6	13.49±0.27	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)	CO ₂ 累积 排放量 Cumulative CO ₂ flux / (g C/m ²)	培养初期 CO ₂ 排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)						
		不施 (without) N	2.49±0.02	2.62±0.07	0.12±0.07	7.30±0.05	7.09±0.10	-0.21±0.10	48.2±0.9	54.7±1.0	6.50±1.04	103.3±2.0	132.7±3.1	11.99±0.12										
	NH ₄ Cl	2.84±0.05	2.32±0.04	-0.52±0.04	7.16±0.03	7.57±0.10	0.41±0.10	38.8±3.6	53.2±0.7	14.45±0.71	98.6±1.7	130.2±3.9	11.38±0.16											
	KNO ₃	3.34±0.09	2.67±0.03	-0.66±0.03	7.61±0.07	8.09±0.12	0.48±0.12	28.1±2.5	32.8±1.2	4.76±1.21	112.2±0.7	162.3±1.6	12.24±0.04											
	高 High	不施 (without) N	2.37±0.05	3.33±0.06	0.61±0.06	8.13±0.03	8.88±0.05	0.75±0.05	30.2±1.6	34.3±1.0	4.13±0.97	101.5±1.4	128.7±2.4	13.19±0.09										
林分、湿度与铵态氮添加三因素方差分析 Three-way repeated measures ANOVA with vegetation, moisture and NH ₄ Cl addition	高 High	NH ₄ Cl	2.91±0.06	3.18±0.10	0.27±0.10	8.98±0.04	9.09±0.10	0.11±0.10	30.3±0.5	33.9±1.3	3.65±1.28	111.4±3.4	122.5±3.3	12.30±0.21	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)	CO ₂ 累积 排放量 Cumulative CO ₂ flux / (g C/m ²)	培养初期 CO ₂ 排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux / (mg C m ⁻² h ⁻¹)						
		KNO ₃	3.79±0.07	3.81±0.11	0.02±0.11	9.32±0.03	9.18±0.18	-0.14±0.18	29.8±0.3	36.4±0.3	6.58±0.29	114.6±1.3	133.4±1.2	13.18±0.16										
	林分、湿度与铵态氮添加三因素方差分析 Three-way repeated measures ANOVA with vegetation, moisture and NH ₄ Cl addition																							
	林分 Vegetation	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	n.s.					***	***	***	***	***	***
	湿度 Moisture	***	***	***	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.					n.s.	***	***	***	***	***
铵态氮 NH ₄ Cl	n.s.	***	***	n.s.	***	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				
林分×湿度 Vegetation by Moisture	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***				
林分×铵态氮 Vegetation by NH ₄ Cl	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***				
湿度×铵态氮 Moisture by NH ₄ Cl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				
林分×湿度×铵态氮 Vegetation by Moisture by NH ₄ Cl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				
林分、湿度与硝态氮添加三因素方差分析 Three-way repeated measures ANOVA with vegetation, moisture and KNO ₃ addition																								
林分 Vegetation	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***			
湿度 Moisture	***	***	***	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***				
硝态氮 KNO ₃	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				
林分×湿度 Vegetation by Moisture	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***			
林分×硝态氮 Vegetation by KNO ₃	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***			
湿度×硝态氮 Moisture by KNO ₃	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				
林分×湿度×硝态氮 Vegetation by Moisture by KNO ₃	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				

表 3 冻结、土壤湿度和施氮对由葡萄糖引起的土壤 CO₂ 排放量及微生物碳影响的方差分析结果
Table 3 Results of repeated measures ANOVA for the effects of freezing, soil moisture and N supply on the glucose-induced soil CO₂ flux and microbial biomass C

实验处理 Treatments	次生白桦林土壤 Glu 引起的 Glucose-induced in WBF soil				阔叶红松混交林土壤 Glu 引起的 Glucose-induced in BKPF soil			
	培养初期 CO ₂ 排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux	CO ₂ 累积 排放量 Cumulative CO ₂ flux	微生物碳 MBC	培养初期 CO ₂ 排放速率 Incipient rate of CO ₂ flux	CO ₂ 最大 排放速率 Maximum rate of CO ₂ flux	CO ₂ 累积 排放量 Cumulative CO ₂ flux	微生物碳 MBC
冻结、湿度与铵态氮添加三因素方差分析 Three-way repeated measures ANOVA with freezing, moisture and NH ₄ Cl addition								
冻结 Freezing	** *	** *	** *	*	*	** *	** *	** *
湿度 Moisture	** *	** *	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	** *	** *
铵态氮 NH ₄ Cl	** *	** *	n.s.	n.s.	*	** *	** *	** *
冻结×湿度 Freezing by Moisture	n.s.	n.s.	** *	n.s.	*	n.s.	*	n.s.
冻结×铵态氮 Freezing by NH ₄ Cl	** *	** *	n.s.	n.s.	** *	*	n.s.	n.s.
湿度×铵态氮 Moisture by NH ₄ Cl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
冻结×湿度×铵态氮 Freezing by Moisture by NH ₄ Cl	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	** *
冻结、湿度与硝态氮添加三因素方差分析 Three-way repeated measures ANOVA with freezing, moisture and KNO ₃ addition								
冻结 Freezing	** *	** *	** *	*	*	** *	** *	** *
湿度 Moisture	** *	** *	** *	*	n.s.	n.s.	*	n.s.
硝态氮 KNO ₃	** *	n.s.	** *	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
冻结×湿度 Freezing by Moisture	*	** *	** *	n.s.	n.s.	*	** *	n.s.
冻结×硝态氮 Freezing by KNO ₃	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	** *	** *	n.s.	n.s.
湿度×硝态氮 Moisture by KNO ₃	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*	n.s.	** *
冻结×湿度×硝态氮 Freezing by Moisture by KNO ₃	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, n.s., 不显著

显著大于所施 Glu 含碳量 (6.4 g C/m^2), 这可能与 Glu 施加可刺激土壤融化过程中固有有机碳矿化, 促进向微生物碳转换有关^[25]。方差分析显示硝态氮添加、林分及其相互作用显著地影响到这种 Glu 引起的微生物碳增量 ($P<0.05$) (表 2)。低湿度未施氮冻结后两种林分土壤 Glu 引起的微生物碳 ($6.5\text{—}10.1 \text{ g C/m}^2$) 显著小于未冻结土壤 ($17.7\text{—}20.3 \text{ g C/m}^2$) ($P<0.05$) (图 4)。并且无论冻结与否, 湿度的增加对土壤 Glu 引起的微生物碳均表现为抑制作用 (图 4)。单施 NH_4Cl 促进冻结后土壤 Glu 引起的微生物碳, 而对未冻结土壤主要表现为抑制作用 (图 4); 方差分析显示铵态氮和硝态氮添加分别显著地影响到阔叶红松混交林和次生白桦林土壤 Glu 引起的微生物碳增量 ($P<0.01$) (表 3)。因此, 土壤融化过程中葡萄糖对土壤微生物碳的激发效应与土壤湿度、外源氮的形态及林分类型有关 (表 3)。Lukas 等^[25]发现施加玉米残渣激发冻土融化过程中土壤固有有机碳向微生物碳转变, 且这种激发效应显著大于未冻结土壤 ($P<0.05$)。Blagodatskaya 等^[40]认为土壤有机碳激发效应所增加的 CO_2 释放可能不仅仅与土壤微生物量周转有关, 还可能受到土壤微生物群落的影响。研究表明^[5,41], 冻结过程显著地减少土壤微生物量及微生物碳/氮比, 土壤微生物优势群落出现从真菌逐渐转向细菌^[42]。因此, 这种冻结显著影响葡萄糖对森林土壤微生物碳的激发效应可能与微生物群落结构的变化有关。

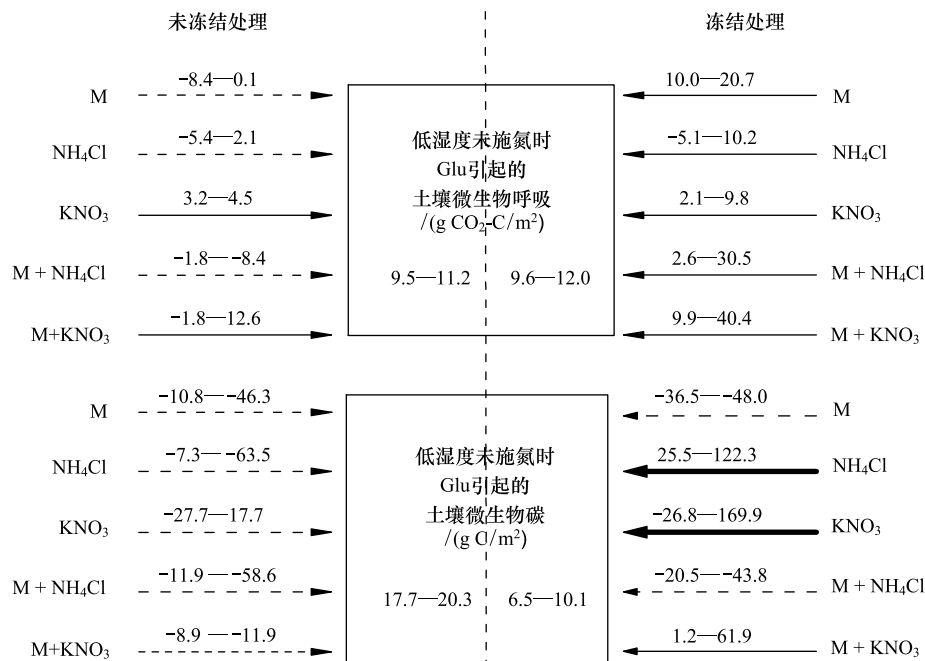


图 4 氮添加、湿度增加 (M) 及其组合时未冻结和冻结后土壤 Glu 引起的微生物呼吸及微生物碳的增加或减少百分数

Fig.4 Percentile increase or decrease in the glucose-induced soil microbial respiration and microbial biomass C in responses to NH_4Cl or KNO_3 addition and increased soil moisture (M) with and without freezing treatment

图中各箭头上百分数范围的平均值是正值则箭头为实线, 反之则为虚线; 平均值的绝对值越大箭头越粗; 增加或减少百分数的计算方法见本文 1.4 计算与统计分析; 未冻结土壤微生物呼吸及微生物碳数据参见文献^[19]

2.4 森林土壤 CO_2 累积排放量与土壤活性碳、氮含量的关系

由于水浸提和 K_2SO_4 浸提的土壤活性碳、氮含量具有很强关联性, 故进行逐步回归时将两者分开讨论, 取回归决定系数较大的逐步回归结果。另外, 不同处理实验土壤不同形态氮含量数据可参见文献^[38]。基于两种林分土壤不同处理融化过程 CO_2 累积排放量与土壤活性碳、氮含量的逐步回归分析结果显示: 实验条件下, 次生白桦林土壤融化过程 CO_2 累积排放量受到微生物碳、微生物氮和 K_2SO_4 浸提 DON 含量的影响, 共同解释其 46% 的变化, 微生物碳贡献率最大; 阔叶红松混交林土壤融化过程 CO_2 累积排放量受到 K_2SO_4 浸提 NH_4^+ , NO_3^- -N 及 DOC 含量的影响, 共同解释其 69% 的变化, K_2SO_4 浸提 DOC 贡献率最大 (表 4)。未冻结土壤 CO_2 累积排放量与土壤微生物碳及 K_2SO_4 浸提的 DOC 含量正相关, 并与土壤矿质氮或 K_2SO_4 浸提的 DON 含

量负相关^[19]。由此可见,无论冻结与否,土壤碳和氮的有效性均为两种林分土壤 CO₂ 排放的重要影响因子。土壤碳素有效性增加快速影响冬季土壤呼吸^[12,22],但在冬末春初融化期可能还受到土壤水分及氮素有效性的影响^[39]。Stielstra 等^[15]认为土壤湿度是控制冬季土壤 CO₂ 排放的最主要因子。徐星凯等^[5]观测到不同冻结处理的原状土柱融化过程中 CO₂ 排放速率与微生物碳和氮、K₂SO₄ 和水浸提的 DON 和 NH₄⁺ 以及 WFPS 呈显著正相关关系($P<0.05$)。结合本实验结果及前期报道的未冻结实验结果^[19],可以推测无论冻结与否,森林土壤微生物呼吸与土壤湿度、微生物量及土壤速效碳和氮含量有关。

表 4 培养期间两种林分土壤 CO₂ 累积排放量与土壤活性碳、氮含量之间的回归分析结果

Table 4 Results of stepwise regression analysis for the cumulative CO₂ fluxes from WBF and BKPF soils against the soil labile C and N pools

Y(次生白桦林土壤 CO ₂ 累积排放量) Y(Cumulative CO ₂ flux from WBF soil)/(g CO ₂ -C/m ²)				
变量 Variable	系数 Coefficient	标准误差 Standard error	相对贡献率/% Relative contribution	R ²
b ₀ Constant	12.57	5.97		0.46 ***
X ₁ , 微生物碳 MBC/(g CO ₂ -C/m ²)	0.32	0.08	49.4	
X ₂ , 微生物氮 MBN/(g CO ₂ -C/m ²)	-7.37	2.94	26.7	
X ₃ , K ₂ SO ₄ 浸提 DON K ₂ SO ₄ -extractable DON/(g CO ₂ -C/m ²)	-0.82	0.38	23.9	
Y(阔叶红松混交林土壤 CO ₂ 累积排放量) Y(Cumulative CO ₂ flux from BKPF soil)/(g CO ₂ -C/m ²)				
变量 Variable	系数 Coefficient	标准误差 Standard error	相对贡献率/% Relative contribution	R ²
b ₀ Constant	0.00	0.09		0.69 ***
X ₁ , K ₂ SO ₄ 浸提 NH ₄ ⁺ -N K ₂ SO ₄ -extractable NH ₄ ⁺ -N/(g CO ₂ -C/m ²)	-0.48	0.10	32.2	
X ₂ , K ₂ SO ₄ 浸提 DOC K ₂ SO ₄ -extractable DOC/(g CO ₂ -C/m ²)	0.60	0.10	40.3	
X ₃ , K ₂ SO ₄ 浸提 NO ₃ ⁻ -N K ₂ SO ₄ -extractable NO ₃ ⁻ -N/(g CO ₂ -C/m ²)	-0.41	0.10	27.5	

样本容量 n = 36; * * * P < 0.001; R² 回归确定系数

3 结论

两种林分土壤融化初期存在 CO₂ 激发排放的现象,这种激发排放的强度和持续时间在外源碳添加后显著地增大,并受到林分类型和土壤湿度的影响。与阔叶红松混交林土壤相比,次生白桦林土壤较高的 DOC 及微生物碳含量可能导致其融化过程微生物呼吸增强。外源 Glu 引起的林地冻土融化过程中微生物呼吸碳排放量显著地大于所施 Glu 含碳量,这有力显示了施加 Glu 引起土壤固有有机碳的分解。湿度水平影响 Glu 对土壤微生物呼吸及微生物碳的刺激效应;外源氮影响 Glu 对土壤微生物呼吸及微生物碳的刺激效应,但随着湿度、林分和氮形态的不同存在差异。通过与未冻结实验结果^[19] 比较,发现土壤冻结过程显著地促进土壤微生物呼吸、削弱了外源氮对土壤微生物呼吸的抑制效果,并显著地改变了外源碳对土壤微生物碳和微生物呼吸的激发效应。无论冻结与否,温带森林土壤微生物呼吸和微生物量对葡萄糖施加的响应均与林分类型、湿度、外源氮供给及其形态存在显著的相关性。未来研究应进一步模拟野外实际情况,考虑外源物(如凋落物及其浸提物)的种类和剂量、冻融交替的频次和强度以及更多湿度梯度对中国高寒区森林土壤有机碳分解激发效应的影响及相关微生物机制。

参考文献 (References):

[1] Durún J, Rodríguez A, Morse J L, Groffman P M. Winter climate change effects on soil C and N cycles in urban grasslands. Global Change Biology, 2013, 19(9): 2826-2837.

[2] Goldberg S D, Muhr J, Borken W, Gebauer G. Fluxes of climate-relevant trace gases between a Norway spruce forest soil and atmosphere during repeated freeze-thaw cycles in mesocosms. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2008, 171(5): 729-739.

chinaXiv:201704.00343v1

- [3] Kim D G, Vargas R, Bond-Lamberty B, Turetsky M R. Effects of soil rewetting and thawing on soil gas fluxes: a review of current literature and suggestions for future research. *Biogeosciences*, 2012, 9(7): 2459-2483.
- [4] Schimel J P, Clein J S. Microbial response to freeze-thaw cycles in tundra and taiga soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(8): 1061-1066.
- [5] 徐星凯, 段存涛, 吴浩浩, 李团胜, Cheng W G. 冻结强度和冻结时间对高寒区温带森林土壤微生物量、可浸提的碳和氮含量及 N_2O 和 CO_2 排放量的影响. *中国科学: 地球科学*, 2015, 45(11): 1698-1712.
- [6] 秦璐, 吕光辉, 何学敏, 张雪妮, 张雪梅, 孙景鑫, 李尝君, 杨晓东. 艾比湖地区土壤呼吸对季节性冻土厚度变化的响应. *生态学报*, 2013, 33(22): 7259-7269.
- [7] Grogan P, Michelsen A, Ambus P, Jonasson S. Freeze-thaw regime effects on carbon and nitrogen dynamics in sub-arctic heath tundra mesocosms. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(4): 641-654.
- [8] Koponen H T, Flöjt L, Martikainen P J. Nitrous oxide emissions from agricultural soils at low temperatures: a laboratory microcosm study. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(5): 757-766.
- [9] Larsen K S, Jonasson S, Michelsen A. Repeated freeze-thaw cycles and their effects on biological processes in two arctic ecosystem types. *Applied Soil Ecology*, 2002, 21(3): 187-195.
- [10] Groffman P M, Hardy J P, Driscoll C T, Fahey T J. Snow depth, soil freezing, and fluxes of carbon dioxide, nitrous oxide and methane in a northern hardwood forest. *Global Change Biology*, 2006, 12(9): 1748-1760.
- [11] Muhr J, Borken W, Matzner E. Effects of soil frost on soil respiration and its radiocarbon signature in a Norway spruce forest soil. *Global Change Biology*, 2009, 15(4): 782-793.
- [12] Brooks P D, McKnight D, Elder K. Carbon limitation of soil respiration under winter snowpacks: potential feedbacks between growing season and winter carbon fluxes. *Global Change Biology*, 2005, 11(2): 231-238.
- [13] Drotz S H, Sparrman T, Schleucher J, Nilsson M, Öquist M G.. Effects of soil organic matter composition on unfrozen water content and heterotrophic CO_2 production of frozen soils. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74(8): 2281-2290.
- [14] Öquist M G, Laudon H. Winter soil frost conditions in boreal forests control growing season soil CO_2 concentration and its atmospheric exchange. *Global Change Biology*, 2008, 14(12): 2839-2847.
- [15] Stielstra C M, Lohse K A, Chorover J, McIntosh J C, Barron-Gafford G A, Perdrial J N, Litvak M, Barnard H R, Brooks P D. Climatic and landscape influences on soil moisture are primary determinants of soil carbon fluxes in seasonally snow-covered forest ecosystems. *Biogeochemistry*, 2015, 123(3): 447-465.
- [16] Lou Y S, Ren L X, Li Z P, Zhang T L, Inubushi K. Effect of rice residues on carbon dioxide and nitrous oxide emissions from a paddy soil of subtropical China. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2007, 178(1/4): 157-168.
- [17] Lu W W, Ding W X, Zhang J H, Li Y, Luo J F, Bolan N, Xie Z B. Biochar suppressed the decomposition of organic carbon in a cultivated sandy loam soil: a negative priming effect. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 76: 12-21.
- [18] Zou J W, Huang Y, Zong L G, Zheng X H, Wang Y S. Carbon dioxide, methane, and nitrous oxide emissions from a rice-wheat rotation as affected by crop residue incorporation and temperature. *Advances in Atmospheric Sciences*, 2004, 21(5): 691-698.
- [19] 吴浩浩, 徐星凯, 段存涛, 李团胜, Cheng W G. 植被类型、湿度和氮素供给对外源碳刺激森林土壤异养呼吸和微生物碳量的影响. *中国科学: 地球科学*, 2015, 45(6): 820-830.
- [20] 王若梦, 董宽虎, 何念鹏, 朱剑兴, 代景忠, 施侃侃. 围封对内蒙古大针茅草地土壤碳矿化及其激发效应的影响. *生态学报*, 2013, 33(12): 3622-3629.
- [21] Matzner E, Borken W. Do freeze-thaw events enhance C and N losses from soils of different ecosystems? A review. *European Journal of Soil Science*, 2008, 59(2): 274-284.
- [22] Lipson D A, Schmidt S K, Monson R K. Carbon availability and temperature control the post-snowmelt decline in alpine soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(4): 441-448.
- [23] Schmidt S K, Lipson D A. Microbial growth under the snow: implications for nutrient and allelochemical availability in temperate soils. *Plant and Soil*, 2004, 259(1/2): 1-7.
- [24] Jacinthe P A, Lal R, Kimble J M. Carbon budget and seasonal carbon dioxide emission from a central Ohio Luvisol as influenced by wheat residue amendment. *Soil and Tillage Research*, 2002, 67(2): 147-157.
- [25] Lukas S, Potthoff M, Dyckmans J, Joergensen R G. Microbial use of ^{15}N -labelled maize residues affected by winter temperature scenarios. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 65: 22-32.
- [26] Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Fifth Assessment Report (AR5), Working Group I: The physical Science Basis. Cambridge: Cambridge University Press, 2013: 475-475.

- [27] Wu X, Brüggemann N, Butterbach-Bahl K, Fu B J, Liu G H. Snow cover and soil moisture controls of freeze-thaw-related soil gas fluxes from a typical semi-arid grassland soil: a laboratory experiment. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(2): 295-306.
- [28] Teepe R, Vor A, Beese F, Ludwig B. Emissions of N_2O from soils during cycles of freezing and thawing and the effects of soil water, texture and duration of freezing. *European Journal of Soil Science*, 2004, 55(2): 357-365.
- [29] 赵明月, 赵文武, 钟莉娜. 土地利用和环境因子对表层土壤有机碳影响的尺度效应——以陕北黄土丘陵沟壑区为例. *生态学报*, 2014, 34(5): 1105-1113.
- [30] 孙玉军, 张俊, 韩爱惠, 王雪军, 王新杰. 兴安落叶松 (*Larix gmelini*) 幼龄林的生物量与碳汇功能. *生态学报*, 2007, 27(5): 1756-1762.
- [31] Xu X K, Han L, Wang Y S, Inubushi K. Influence of vegetation types and soil properties on microbial biomass carbon and metabolic quotients in temperate volcanic and tropical forest soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2007, 53(4): 430-440.
- [32] 王旭, 周广胜, 蒋延玲, 贾丙瑞, 王凤玉, 周莉. 山杨白桦混交次生林与原始阔叶红松林土壤呼吸作用比较. *植物生态学报*, 2007, 31(3): 348-354.
- [33] Jenkinson D S. Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soil // Wilson J R, ed. *Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems*. Wallingford: CAB International, 1988: 368-386.
- [34] Jenkinson D S, Brookes P C, Powlson D S. Measuring soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(1): 5-7.
- [35] Wu J S, Joergensen R G, Pommerening B, Chaussod R, Brookes P C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22(8): 1167-1169.
- [36] Franzluebbers A J. Microbial activity in response to water-filled pore space of variably eroded southern Piedmont soils. *Applied Soil Ecology*, 1999, 11(1): 91-101.
- [37] Panikov N S, Dedysh S N. Cold season CH_4 and CO_2 emission from boreal peat bogs (West Siberia): winter fluxes and thaw activation dynamics. *Global Biogeochemical Cycles*, 2000, 14(4): 1071-1080.
- [38] 吴浩浩. 干湿交替及冻融过程对温带森林土壤温室气体净通量的影响[D]. 西安: 长安大学, 2014.
- [39] Kurganova I N, Tipe P. The effect of freezing-thawing processes on soil respiration activity. *Eurasian Soil Science*, 2003, 36(9): 976-985.
- [40] Blagodatskaya E V, Blagodatsky S A, Anderson T H, Kuzyakov Y. Priming effects in chernozem induced by glucose and n in relation to microbial growth strategies. *Applied Soil Ecology*, 2007, 37(1/2): 95-105.
- [41] Mørkved P T, Dörsch P, Henriksen T M, Bakken L R. N_2O emissions and product ratios of nitrification and denitrification as affected by freezing and thawing. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(12): 3411-3420.
- [42] Högborg M N, Högborg P, Myrold D D. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three?. *Oecologia*, 2007, 150(4): 590-601.